

Uso de Antimicrobianos na Produção de Bovinos e Desenvolvimento de Resistência



República Federativa do Brasil

Luiz Inácio Lula da Silva

Presidente

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Roberto Rodrigues

Ministro

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

Conselho de Administração

José Amauri Dimárzio

Presidente

Clayton Campanhola

Vice-Presidente

Alexandre Kalil Pires

Dietrich Gerhard Quast

Sérgio Fausto

Urbano Campos Ribeiral

Membros

Diretoria-Executiva

Clayton Campanhola

Diretor-Presidente

Gustavo Kauark Chianca

Herbert Cavalcante de Lima

Mariza Marilena T. Luz Barbosa

Diretores-Executivos

Embrapa Gado de Corte

Kepler Euclides Filho

Chefe-Geral



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

ISSN 1517-3747

Novembro, 2004

Documentos 144

Uso de Antimicrobianos na Produção de Bovinos e Desenvolvimento de Resistência

Renato Andreotti
Maria Luiza Franceschi Nicodemo

Campo Grande, MS
2004

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Gado de Corte

Rodovia BR 262 Km 4, CEP 79002-970 Campo Grande, MS

Caixa Postal 154

Fone: (67) 368 2064

Fax: (67) 368 2180

<http://www.cnpqg.embrapa.br>

E-mail: sac@cnpqg.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: *Ivo Martins Cezar*

Secretário-Executivo: *Mariana de Aragão Pereira*

Membros: *Antonio do Nascimento Rosa, Arnildo Pott, Cacilda Borges do Valle, Ecila Carolina Nunes Zampieri Lima, Lúcia Gatto, Maria Antonia Martins de Ulhôa Cintra, Mariana de Aragão Pereira, Rodiney de Arruda Mauro, Tênisson Waldow de Souza*

Supervisor editorial: *Ecila Carolina Nunes Zampieri Lima*

Revisor de texto: *Lúcia Helena Paula do Canto*

Normalização bibliográfica: *Maria Antonia M. de Ulhôa Cintra*

Fotos da capa: *Marilene Chang, Josimar Lima do Nascimento, Gisele Rosso*

Capa: *Paulo Roberto Duarte Paes*

Editoração eletrônica: *Ecila Carolina Nunes Zampieri Lima*

1ª edição

1ª impressão (2004): 500 exemplares

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

CIP-Brasil. Catalogação-na-publicação.

Embrapa Gado de Corte.

Andreotti, Renato.

Uso de antimicrobianos na produção de bovinos e desenvolvimento de resistência / Renato Andreotti, Maria Luiza Franceschi Nicodemo. -- Campo Grande : Embrapa Gado de Corte, 2004.

50 p. ; 21 cm. -- (Documentos / Embrapa Gado de Corte, ISSN 1517-3747 ; 144)

ISBN 85-297-0172-0

1. Bovino. 2. Nutrição animal. 3. Antibiótico. 4. Resistência a produtos químicos. I. Nicodemo, Maria Luiza Franceschi. II. Embrapa Gado de Corte (Campo Grande, MS). III. Título. IV. Série.

CDD 636.08557 (21. ed.)

© Embrapa 2004

Autores

Renato Andreotti

Médico-Veterinário, Ph.D., CRMV-MS Nº 0510,
Embrapa Gado de Corte, Rodovia BR 262, Km 4, Caixa
Postal 154, 79002-970 Campo Grande, MS. Correio
eletrônico: andreott@cnp gc.embrapa.br

Maria Luiza Franceschi Nicodemo

Zootecnista, Ph.D., CRMV-MS Nº 0100/Z, Embrapa
Gado de Corte, Rodovia BR 262, Km 4, Caixa Postal
154, 79002-970 Campo Grande, MS. Correio eletrôni-
co: luiza@cnp gc.embrapa.br

Sumário

Resumo	7
Abstract	9
Introdução	9
Uso de antimicrobianos	11
Antibióticos	12
Uso de antibióticos na produção agropecuária	13
Antibióticos na prevenção e controle de patologias	14
Antibióticos como promotores de crescimento	15
Resistência a antibióticos	16
Mecanismos de resistência	20
Transferência de resistência a antibióticos	23
Transferência de resistência a glicopeptídios	24
Modos de disseminação do grupo genético Van A	25
Seleção de resistência a avoparcina como promotor de crescimento	25
Disseminação da resistência a estreptograminas por patógenos gram-positivos	25
Resíduos de antibióticos	27
Análise de risco no controle de resíduos de antimicrobianos em produtos de origem animal	27
Gado de corte	31
Gado de leite	32
Sistemas de alimentação	34
Nutrição	34
Probióticos e prebióticos	35

Medidas de controle	37
Biossegurança	39
Alternativas terapêuticas aos antibióticos - bacteriófagos	40
Estratégias de manejo de abate na redução da contaminação bacteriana de produtos cárneos	42
Pré-abate	43
Processamento pós-abate	43
Considerações finais	44
Referências bibliográficas	45

Uso de Antimicrobianos na Produção de Bovinos e Desenvolvimento de Resistência

Renato Andreotti

Maria Luiza Franceschi Nicodemo

Resumo

A introdução de agentes antimicrobianos no uso terapêutico foi revolucionária no combate às doenças causadas por bactérias no meio do século passado. Na alimentação animal, nos anos de 1950, contribuiu para o aumento considerável da produção animal. Atualmente, isto está em discussão por causa do desenvolvimento de resistência bacteriana e do seu impacto no tratamento de doenças em humanos. O uso de antibióticos na produção animal é considerado pela Organização Mundial de Saúde um risco crescente para a saúde humana. Este documento pretende contribuir para a discussão sobre o controle dos antimicrobianos em bovinos de corte, levantando informações disponíveis na literatura internacional e as tendências das regulamentações, sem, contudo, ser exaustivo.

Termos para indexação: antibióticos, bovinos, nutrição animal, resistência

Antimicrobial use in Cattle Production and the Development of Resistance

Abstract

The introduction of antimicrobial agents in the therapeutic use was considered revolutionary in the battle against diseases caused by bacteria in the middle of the last century. Antibiotics administered in animal feed in the 1950s increased productivity of animal husbandry. Nowadays its use is in discussion based on the development of bacterial resistance and its impact in the treatment of human diseases. The Health World Organization considers antibiotics use in animal husbandry a risk to public human health. This document contributes to the discussion of the control of antimicrobials for animal husbandry, considering information available and the tendencies of regulatory policies, without, however, exhausting the subject.

Index terms: animal nutrition, antibiotics, bovine, resistance

Introdução

A busca de produtividade é uma marca fundamental da economia de mercado onde o indicador de competência consiste em oferecer produtos de qualidade com preço adequado e alta rentabilidade. Com base nessas premissas a cadeia produtiva de carne bovina vem ao longo do tempo, oferecendo novas tecnologias. No entanto, a sociedade percebe que nessas novas tecnologias há aspectos que necessitam de ajustes por parte do setor produtivo em alguns momentos.

A introdução de agentes antimicrobianos no uso terapêutico foi revolucionária no combate às doenças causadas por bactérias no meio do século passado. O seu uso na alimentação animal a partir de 1950 aumentou consideravelmente a produção (Semjén, 2000). Atualmente, esses agentes estão em discussão por causa do desenvolvimento de resistência e do impacto no tratamento de doenças animais e em humanos.

Na última década, a maioria dos produtos primários de origem animal cresceu negativamente nas economias desenvolvidas, mas, nos países em desenvolvimento, o crescimento foi positivo (70%) e muito expressivo para os suínos e as aves, por causa da competitividade do sistema produtivo. O Brasil é hoje o maior exportador de carne bovina do mundo, superando, em volume, Estados Unidos e Austrália. O faturamento desse setor chegou a US\$ 1,20 bilhão, com um incremento de 36% em relação aos primeiros dez meses de 2002, já superando em quase 10% a receita total do ano. A conjuntura internacional abriu ao Brasil um mercado de oportunidade, em função dos problemas sanitários enfrentados pela União Européia (doença da vaca louca e febre aftosa), Argentina (febre aftosa) e Uruguai (febre aftosa) nos anos de 2000 e 2001 (Rosa, 2003) e pela seca prolongada na Austrália.

O consumo *per capita* de carne bovina no país, que hoje está próximo a 37 kg, aumentou apenas 3%, e está estagnado desde 2000. Ao mesmo tempo, o consumo *per capita* na União Européia, maior cliente brasileiro, está se recuperando, e o Brasil ainda trabalha pela abertura de novos mercados. Daí a importância em se trabalhar pela valorização da carne brasileira no mercado internacional (Rosa, 2003).

O uso de antibióticos na produção animal é considerado pela Organização Mundial de Saúde (Departamento de Doenças Emergentes e Outras Doenças Notificáveis) um risco crescente para a saúde humana. Técnicos de órgãos oficiais e associações de consumidores vêm trabalhando em prol da restrição total ao uso de antibióticos como promotores de crescimento na Europa.

Com interesse na conquista e consolidação de novos mercados, ajustes no sistema de produção brasileiro podem ser necessários, entre os quais o uso de promotores de crescimento que é um dos aspectos mais polêmicos, visando a atender a esse mercado mais exigente. O desafio atual para a indústria de produção animal é de implementar estratégias de segurança alimentar efetivas e

sustentáveis em todos os níveis da cadeia produtiva, que cruzem fronteiras nacionais. Para alcançar um nível aceitável de confiança dos consumidores, é necessário estabelecer programas de segurança alimentar que procedam a uma análise de risco adequada em todos os níveis, da fazenda ao consumo (Ratcliff, 2003).

A produção certificada, com normas de produção animal bem definidas, deve ser exercida de forma que as práticas correntes de produção animal sejam voltadas à melhoria da qualidade dos produtos de origem animal. O uso responsável de aditivos é um exemplo dessa prática que procura salvaguardar a credibilidade dos consumidores no país e no exterior sobre a produção e transformação de produtos de origem animal, atendendo todos os mercados indiscriminadamente.

Dentro desse contexto, este documento pretende contribuir para a discussão sobre o controle do uso de antimicrobianos em bovinos, comentando sobre as tendências das regulamentações para o uso de antibióticos na nutrição animal, especialmente para bovinos, com enfoque no desenvolvimento de resistência a antibióticos e suas conseqüências e nas alternativas de produção que permitam minimizar a contaminação microbiana dos alimentos de origem animal.

Uso de antimicrobianos

O uso de antimicrobianos como medicação preventiva ou como aditivos em agropecuária tem contribuído para o sucesso do agronegócio e, conseqüentemente, para o superávit da balança comercial brasileira. Será possível manter os mesmos níveis de produção sem o uso de antibióticos como aditivos alimentares? A restrição do uso de antimicrobianos pode resultar em um aumento do aparecimento de doenças infecciosas nos rebanhos, e como conseqüência, produtos de qualidade sanitária inferior.

Há divergências sobre o efeito geral no uso de antibióticos. Alguns consideram que a restrição, realizada pela Suécia e Dinamarca, do uso de antimicrobianos como aditivos em avicultura tenha ocasionado um aumento da utilização dos antimicrobianos, na forma de medicação terapêutica para o tratamento de processos infecciosos instalados, principalmente, no trato gastrintestinal – TGI – das aves (Bogaard & Stobbering, 2000). Stobbering & Bogaard (2000) mencionaram comparações de prevalência de resistência à amoxilina, oxitetraciclina, trimetoprim e cloranfenicol em suínos da Suécia (onde antibióticos foram

banidos como promotores do crescimento em 1986) e da Holanda, registrando valores menores de 24% a 60% na Suécia.

Concluíram que essa menor prevalência indicava que não houve aumento do uso terapêutico desses compostos após a proibição. Esses mesmos autores acreditam que ao se evitar o fornecimento de antibióticos como promotores de crescimento, seria possível reduzir o uso de antibióticos por animais na União Europeia em pelo menos 30%, e em até 50% em alguns países. Eles também comentaram que a experiência sueca mostrou ser possível a produção animal moderna e lucrativa coexistir com a proibição do uso de antibióticos como promotores de crescimento.

Ratcliff (2003) também demonstrou preocupação com o impacto do banimento dos antibióticos como promotores de crescimento na produção de suínos e aves na Europa. O autor ressaltou que alguns produtores, ao lançarem mão de aditivos não convencionais (como ácidos orgânicos; ervas e óleos essenciais; manan-oligossacarídeos) aliados a mudanças estratégicas no manejo e na alimentação dos animais, conseguiram manter ou até mesmo melhorar o desempenho em relação ao obtido com promotores de crescimento.

Antibióticos

Desde a descoberta e introdução de agentes antimicrobianos na terapia, esses têm sido considerados uma arma milagrosa no combate às doenças causadas por bactérias (Levy, 1992). Principalmente por causa do uso dos antimicrobianos, quase todas as doenças infecciosas, que têm estado entre as causas mais comuns de morte em humanos e animais por muito tempo, desapareceram ou, pelo menos, mostraram um decréscimo na sua incidência por volta da metade do século 20 (Semjén, 2000).

O uso de antibióticos tornou possível o controle de doenças bacterianas na medicina humana, produção animal e agricultura. Em geral, não somente pelo seu grande efeito, mas pela sua segurança como consequência da sua seletiva toxicidade que é direcionada principalmente contra bactérias invasoras, sem causar alterações na fisiologia do hospedeiro (Semjén, 2000).

A maioria dos agentes antimicrobianos usados clinicamente pertence a seis famílias principais: penicilinas, cefalosporinas, marcrolídios, aminoglicosídeos,

tetraciclinas e quinolonas. Em alimentação animal pertencem às classes: beta-lactams, tetraciclinas, macrolídios, aminoglicosídeos e sulfonamidas (McDermott et al., 2002). Estima-se que de um a dez milhões de toneladas de antibióticos foram utilizados nos últimos 60 anos, ocasionando uma alteração significativa no ambiente microbiano (Skold, 2000).

O mecanismo antimicrobiano dos antibióticos pode ser agrupado em quatro categorias: inibição da parede celular; alteração da permeabilidade da membrana ou transporte ativo da membrana celular; inibição da síntese de proteína (inibição da tradução e transcrição do material genético) e inibição da síntese do ácido nucléico.

Em ruminantes, de modo geral, os antibióticos que não atuam predominantemente sobre o rúmen reduzem as infecções bacterianas intestinais, preservando a integridade da mucosa intestinal e permitindo melhor absorção dos nutrientes, o que resulta em melhor desempenho. O conceito de promotor de crescimento, neste caso, se confunde com o uso profilático de antibióticos, prevenindo a instalação de patógenos (Gewehr & Lawisch, 2003).

Uso de antibióticos na produção agropecuária

Houve uma intensificação muito acentuada da produção animal nas últimas décadas, com unidades de produção mais adensadas, maiores e alcançando elevadas taxas de desempenho. O aumento na pressão para produção resultou em maior uso de antibióticos para manter melhorias do desempenho e saúde (Hardy, 2002).

Logo depois da introdução de antibióticos no tratamento médico em 1940, eles foram introduzidos em criações de aves e suínos, como promotores de crescimento. Uma descoberta inesperada nos anos de 1950 revelou que antibióticos administrados na alimentação animal em dose bem menor do que a dose terapêutica aumentavam a produtividade da produção animal. Esse achado levou ao uso de certos antibióticos como promotores de crescimento desde então (Witte, 2000).

Nos sistemas de produção agropecuária, os antimicrobianos são empregados com três diferentes propósitos: a) tratamento de infecções bacterianas específi-

cas, b) prevenção de infecções bacterianas, e c) aditivo alimentar, como promotor de crescimento.

Algumas das possíveis razões para explicar os efeitos de agentes antimicrobianos sobre o desempenho animal seriam tanto a redução dos efeitos de doenças subclínicas sobre o crescimento, como evitar que certas bactérias sensíveis entrem em competição com o hospedeiro por nutrientes. Outra possibilidade é de que promotores de crescimento tenham um impacto positivo sobre o sistema imune do hospedeiro, afetando hormônios, citocinas e outros fatores relacionados à resposta imune (McEwen & Fedorka-Cray, 2002). Assim, pode-se pensar que existe um custo orgânico ao se tolerar a ação dos patógenos em desenvolvimento no meio interno do animal.

Antibióticos na prevenção e controle de patologias

Os agentes antimicrobianos são fornecidos aos bovinos, principalmente, para controle de abscessos e prevenir ou tratar doenças respiratórias e relacionadas com estresse de viagem com reflexos na conversão alimentar (McDermott et al., 2002). Nos Estados Unidos, por exemplo, é rotina fornecer pelo menos um agente antimicrobiano na água ou no alimento durante o confinamento (McEwen & Fedorka-Cray, 2002).

Antibióticos são fornecidos a bovinos em terminação para o controle do abscesso de fígado. A presença de abscessos pode reduzir o ganho de peso e o seu controle, aumenta a eficiência alimentar em 10%. Além de controlar abscesso de fígado, os antibióticos também evitam o crescimento de microorganismos nocivos no trato gastrointestinal. Essa redução ocasiona menor competição por nutrientes entre esses microorganismos e o hospedeiro. Antibióticos também podem diminuir o timpanismo, mas existem ainda poucos dados a respeito (Stock & Mader, 1998).

Alguns dos efeitos dos antibióticos podem ser atribuídos ao estado mais saudável das mucosas do trato digestivo quando em tratamento, auxiliando a absorção de nutrientes e evitando a passagem de bactérias patogênicas (Sewell, 1998).

Os níveis de antibióticos para uso contínuo na dieta variam de 35 mg a 100 mg/cabeça/dia. Altos níveis, de 250 mg a 1 g/cabeça/dia, são utilizados em períodos de três dias a quatro semanas. A magnitude da resposta a antibióticos é

variável. Geralmente, animais em estresse, como na desmama, transporte e ao início do confinamento, são os mais beneficiados. Bezerros costumam responder melhor que novilhos de sobreano ao fornecimento de antibióticos (Sewell, 1998). Antibióticos geralmente dão melhores resultados quando fornecidos com dietas com alta proporção de volumosos (Kunkle & Sand, 1998).

Como contraponto, deve ser considerado que os antibióticos podem aumentar a suscetibilidade de animais à infecção pela supressão da flora normal, aumentando a chance de patógenos colonizarem o local, e pela seleção de agentes resistentes. Embora não existam dados comparáveis para animais, estima-se que de 3% a 26% das infecções por *Salmonella* resistente em seres humanos são adquiridas por mecanismos de seleção associado a tratamentos com antibióticos. Esses agentes podem também prolongar a eliminação e aumentar a concentração de patógenos resistentes nas fezes, o que seria um fator de aumento de risco para os consumidores, ainda que existam relatos de redução da carga de patógenos (McEwen & Fedorka-Cray, 2002).

Antibióticos como promotores de crescimento

Promotores de crescimento são substâncias, naturais ou sintéticas, ou organismos vivos, adicionados às rações animais com os objetivos de aumentar o ganho de peso, melhorar a eficiência alimentar e reprodutiva, bem como diminuir a mortalidade (Nicodemo, 2001). A ação dos antibióticos como promotores de crescimento ainda não está completamente definida, mas muito já se conhece sobre o mecanismo de ação de uma classe de antibióticos, os ionóforos (Gewehr & Lawisch, 2003). Uma revisão sobre a utilização de ionóforos para bovinos pode ser encontrada em Nicodemo (2001).

Antibióticos ionóforos alteram as características da fermentação, resultando em mudanças metabólicas favoráveis no rúmen (Nagaraja & Taylor, 1987). Em dietas com alto teor de grãos, ionóforos geralmente reduzem a ingestão de alimento em cerca de 8% a 10% e melhoram a conversão alimentar, mantendo ou aumentando o ganho de peso diário, sem afetar as características de carcaça (Nicodemo, 2001).

As ações dos ionóforos sobre o desempenho parecem resultar de uma série de efeitos sobre o metabolismo. Os ionóforos melhoram a eficiência do metabolismo de energia alterando os tipos de ácidos graxos voláteis produzidos no rúmen (aumento de propionato, redução de acetato e butirato) e diminuindo a energia

perdida durante a fermentação do alimento. O melhor desempenho animal é resultante de maior retenção de energia durante a fermentação ruminal; os ionóforos reduzem a degradação de proteína do alimento e podem diminuir a síntese de proteína microbiana, aumentando a quantidade de proteína de origem alimentar que chega ao intestino delgado (Nicodemo, 2001).

Aditivos alimentares antimicrobianos são utilizados como promotores de crescimento e para melhoria da conversão alimentar. Monensina e lasolacida são antibióticos usados extensivamente para melhorar a conversão alimentar.

O mecanismo pelo qual a monensina inibe a degradação da proteína não está claro. Embora essa atividade tenha poucas implicações para bovinos em dietas com alto teor de grão, os efeitos podem ser significativos em bovinos em crescimento recebendo dieta à base de forrageiras, quando a proteína é suplementada abaixo dos requisitos e ionóforos podem reduzir a incidência de acidose (por meio de aumento no pH ruminal e inibição de bactérias produtoras de ácido láctico), timpanismo e coccidiose. A redução dessas patologias melhora o desempenho animal.

A seletividade do ionóforo depende da permeabilidade do invólucro celular. Bactérias gram-positivas e aquelas com estrutura de parede celular semelhante a estas (cujo invólucro celular é composto apenas de parede celular) são mais inibidas que as gram-negativas típicas (cujo invólucro celular é formado por parede celular e membrana externa) por monensina e outros ionóforos parecidos. As bactérias gram-positivas são as principais responsáveis pela formação de ácido acético, butírico, fórmico e hidrogênio. As bactérias que produzem ácido succínico ou fermentam ácido láctico são geralmente resistentes aos ionóforos (Nicodemo, 2001).

Resistência a antibióticos

Após a introdução na década de 1940 em situações clínicas, os antibióticos têm sido usados como agentes terapêuticos efetivos, mas o seu uso tem sido freqüentemente limitado pelo aparecimento de patógenos resistentes aos antibióticos (Trieu-Cout et al., 1987) (Tabela 1). Resistência a antibióticos é vista como um problema ecológico, que inclui a ecologia dos genes de resistência também como a ecologia da resistência bacteriana (Salyers, 2002).

Tabela 1. Coincidência temporal entre a descoberta/produção de antimicrobianos, início de uso clínico e ocorrência de resistência.

<i>Antimicrobiano</i>	<i>Descoberta/ produção</i>	<i>Uso clínico</i>	<i>Ocorrência de resistência</i>
Penicilina	1940	1943	1940
Estreptomicina	1944	1947	1947, 1956
Tetraciclina	1948	1952	1956
Eritromicina	1952	1955	1956
Vancomicina	1956	1972	1987
Ácido nalidíxico	1960	1962	1966
Gentamicina	1963	1967	1970
Fluoroquinolonas	1978	1982	1985

Fonte: Schwartz & Chaslus-Dancla, 2001.

A evolução da resistência bacteriana aos antibióticos está relacionada com o aumento do uso dessas drogas em hospitais e na produção animal. Adicionalmente, é difícil afirmar a extensão em que isso ocorre e o impacto da transmissão na atual disseminação da resistência em humanos (Fedorka-Cray et al., 2002).

As bactérias se adaptaram rapidamente aos antibióticos por meio do desenvolvimento de resistência. É comum ocorrer resistência microbiana cruzada a várias moléculas de cada grupo de antibióticos (Skold, 2000). Já no final da década de 1960 foi detectada e analisada a resistência transferível em relação aos antibióticos. Um grande reservatório de resistência foi identificado em animais domésticos, quando o plasmídeo codificando a resistência à oxitetraciclina foi encontrado em *Salmonella typhimurium*, uma bactéria capaz de causar zoonose (Witte, 2000).

As bactérias podem se tornar resistentes a medicamentos utilizados para o tratamento humano, podendo levar a um aumento nas doenças e até mesmo à morte. A utilização de antibióticos como promotores de crescimento em espécies domésticas, em baixas dosagens (20 mg a 150 mg/kg alimento), leva ao aparecimento, rapidamente, de linhagens resistentes a antibióticos na flora intestinal, que também contém bactérias patogênicas como *Salmonella* sp. Por meio das fezes ou pelo consumo de produtos de origem animal (carne, leite,

ovos), uma parte das bactérias dissemina-se e coloniza o trato gastrointestinal de seres humanos (Aarestrup et al., 1998).

As estruturas de alguns promotores de crescimento, como avoparcina, virginiamicina e avilamicina, são semelhantes às estruturas de antibióticos de última geração desenvolvidos para uso humano, vancomicina, pristamicina e ziracina, respectivamente. Bactérias resistentes a esses antibióticos foram encontradas no trato gastrointestinal de aves e suínos. Um levantamento da resistência de bactérias a agentes antimicrobianos feito na Dinamarca (Aarestrup et al., 1998) mostrou resistência adquirida por bactérias a todos os agentes antimicrobianos utilizados como promotores de crescimento, com maior frequência de resistência à avilamicina, avoparcina, bacitracina, flavomicina, espiramicina, tilosina e virginiamicina.

O uso de avoparcina como promotor de crescimento foi banido na Comunidade Européia depois que a sua utilização como aditivo foi associada ao aparecimento de *Enterococcus* resistente à vancomicina em animais domésticos. A grande aceitação de lasolacida e monensina na pecuária conduziu ao estudo de vários outros agentes antimicrobianos como avoparcina, laidlomina, lysocellina, narasina, salinomicina, thiopeptina e virginiamicina (Nagaraja & Taylor, 1987).

A relação entre o uso terapêutico de antimicrobianos e o inevitável desenvolvimento de resistência é bem documentado (Linton, 1984). Estudos têm indicado que a transmissão de resistência entre bactérias encontradas em nichos ecológicos bastante distintos é possível. Práticas industriais de produção animal comportam populações extremamente grandes de bactérias que se comunicam geneticamente, propiciando que um evento genético raro se dissemine sob a intensa pressão de seleção (Skold, 2000).

A convivência de bactérias com agentes antimicrobianos acarreta a co-evolução de bactérias adaptadas a esses agentes. Estudos realizados na Holanda mostraram que a prevalência de resistência à tetraciclina em salmonelas isoladas do homem ou de animais aumentou acentuadamente enquanto durou a permissão para o uso de tetraciclina como promotor de crescimento, diminuindo após a proibição. Na Inglaterra, após a proibição de tetraciclina como promotor de crescimento, o percentual de *Salmonella typhimurium* resistente, isolada de bezerros, caiu de 60% em 1970 para 8% em 1977, indicando que a supressão do uso contribuiu para a redução da resistência (Bogaard & Stobbering, 2000).

Bactérias gram-negativas, em geral, permanecem suscetíveis à gentamicina, à ampicilina e às polimixinas. São também suscetíveis a cefalosporinas de 2ª e 3ª geração, como cefuroxima e cefoperazona. A maioria é resistente à estreptomicina, neomicina, tetraciclina, ampicilina e amoxicilina (Erskine et al., 2002).

Bactérias gram-negativas do rúmen tornaram-se mais resistentes ao ionóforo, monensina e tetronasina com o aumento da concentração desses produtos. O aumento da resistência causou aumento da resistência a outro ionóforo – lasolacida – e a um antibiótico – avoparcina (Newbold et al., 1993).

A seleção de resistência bacteriana no homem tem sido associada a resíduos nos alimentos de origem animal, causando o aumento do número de bactérias resistentes colonizando o intestino humano (Semjén, 2000). A maior parte das investigações sobre transferência de resistência de bactérias de animais para bactérias do homem está relacionada com bactérias gram-negativas causadoras de infecções alimentares, como *Salmonella* sp., *Campylobacter* sp. e *Yersinia* sp.

Os reservatórios primários de *Salmonella typhimurium* são bezerros, mas ovelhas, cabras, suínos, aves e cavalos também são envolvidos. Diversas epidemias relacionaram-se a um determinado tipo de bacteriófago – fagotipos (DT 29 em 1963, DT 204 em 1977 e DT 204 e DT 193 em 1980), com um determinado perfil de resistência a antibióticos. Tratamento efetuado nos animais resultou no aumento da pressão seletiva, com a ocorrência de multirresistência nas amostras. O fagotipo DT 104, por causa da sua resistência cromossomal para, pelo menos, cinco antimicrobianos (ampicilina, cloranfenicol, estreptomicina, sulfonamidas e tetraciclina) tem sido uma preocupação desde 1984. Dentre os veículos de transmissão de *S. typhimurium* para o homem, estão o leite cru e derivados lácteos (Bogaard & Stobbering, 2000).

Em observações recentes foram detectados genes intactos relacionados com a resistência de avoparcina em antibióticos preparados para uso como promotores de crescimento, além de outros fragmentos de DNA da bactéria usada na produção. Os genes de resistência à avoparcina são semelhantes aos genes de resistência ao antibiótico vancomicina, a qual está aumentando atualmente (Resistance..., 2004).

Em bactérias patogênicas como *E. coli*, *Salmonella*, *Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Campylobacter*, têm sido observados fenótipos multirresistência a antibióticos (McDermott et al., 2002).

Mecanismos de resistência

As bactérias podem desenvolver resistência de maneiras diferentes, mas principalmente por mutação direta e aquisição de genes de resistência por meio de conjugação.

A habilidade de adquirir resistência genética por transferência horizontal de genes pode ocorrer em horas e é um grande motivo para preocupações, especialmente quando a relação entre genes resistentes pode conferir resistência a mais de uma classe de antibióticos (Hardy, 2002).

Em função da relevância dos estudos relacionados com o desenvolvimento de resistência bacteriana, quatro grandes grupos de bactérias têm sido alvos prioritários de considerações e de programas de monitoramento: *Salmonella* sp., *E. coli*, *Campylobacter* sp. e *Enterococcus* sp., em especial *Enterococcus faecium* e *Enterococcus faecalis* (Palermo Neto & Titze, 2002).

Entre os elementos genéticos de transferência de resistência estão os plasmídios, transposons e integrons/cassetes gênicos. Esses três elementos são compostos de fitas duplas de DNA, mas diferem em tamanho, propriedades e formas de dispersão (Schwartz & Chaslus-Dancla, 2001; Hardy, 2002).

Plasmídios são uma classe importante de elementos genéticos móveis que funcionam como cromossomos acessórios, que podem se replicar automaticamente. Eles carregam genes para a inativação de antibióticos, metabolismo de produtos naturais e produção de toxinas. Os plasmídios diferem do cromossomo bacteriano por serem dispensáveis, dependendo das circunstâncias. Alguns plasmídios possibilitam às bactérias a transferência de material genético entre si por meio de contato direto célula a célula, no processo de conjugação.

Os genes que conferem resistência a múltiplos antibióticos estão ligados juntos nos plasmídios do fator de resistência. Os maiores desses plasmídios contêm fator de transferência de resistência além dos genes de resistência, que codificam enzimas para a inativação de drogas específicas. Fatores de resistência associados com uma região de transferência de resistência podem ser transmitidos em

culturas mistas mesmo entre diferentes espécies bacterianas. Assim, resistência múltipla a drogas pode ser “infecciosa”.

Plasmídios de fator de resistência pequenos não têm região de transferência de resistência, e geralmente conferem resistência a um único antibiótico. Um fator de resistência infeccioso se forma quando o gene de resistência, altamente móvel, se une a plasmídios de transferência de resistência. Elementos genéticos móveis que permitem a movimentação de genes entre lugares não homólogos no DNA, como plasmídios de resistência, são chamados transposons. Em *E. coli*, por exemplo, podem ser encontrados os transposons Tn3, Tn5 e Tn2571, que conferem resistência à ampicilina, à canamicina, e a anticorpos múltiplos e mercúrio, respectivamente (Stryer, 1995).

Cassetes gênicos – grupo de genes adjacentes – são pequenos elementos móveis, apenas detectados em bactérias gram-negativas. Geralmente consistem em um sítio de recombinação específico e de um único gene que é freqüentemente um gene de resistência antimicrobiana. Cassetes gênicos não têm mecanismos de replicação, nem de mecanismos de transposição. Em geral, estão presentes em regiões específicas dos integrons, que geralmente representam transposons intactos ou não, com duas regiões preservadas. Uma delas, a região conservada 5', codifica a integrase responsável pela inserção específica de cassetes gênicos e também hospeda o promotor para a expressão de genes do cassette. A outra região conservada 3' pode representar outro gene de resistência (Schwartz & Chaslus-Dancla, 2001).

A maioria dos casos de resistência está relacionada com genes que residem em plasmídios ou em transposons e que, desta forma podem ser rapidamente disseminados entre diferentes gêneros de bactérias. Com o desenvolvimento da engenharia genética, nos anos de 1970, mostrou-se a possibilidade de genes heterólogos poderem ser expressos em bactérias que são extremamente distantes na sua base evolucionária. Genes originários de bactérias gram-positivas são prontamente expressos em microorganismos gram-negativos, mostrando, assim as possibilidades de *pool* de genes resistentes de bactéria gram-positiva migrando para bacilo gram-negativo.

A contaminação de alimentos de origem animal por bactérias resistentes e a subsequente veiculação destas, ou de genes de resistência destas bactérias para aquelas presentes na microbiota humana, são uma possibilidade concreta. O

antimicrobiano presente na ração de animais pode, ao alcançar os intestinos deles, inibir o crescimento ou destruir algumas bactérias como os *Streptococcus* sp., *Staphylococcus* sp. e os *Enterococcus* a eles sensíveis, selecionando outras naturalmente resistentes. Estas, uma vez livres da competição, teriam melhores condições para proliferação, e poderiam alcançar o ser humano por meio de um alimento contaminado.

Em que nível o promotor de crescimento seleciona organismos resistentes no bovino? Qual a prevalência de *Enterococcus* resistentes na população humana? Se eles estão transitoriamente no trato gastrointestinal, podem transferir resistência a outros organismos? Se podem, em que extensão? *Enterococcus* de bovinos podem colonizar seres humanos? Se podem, causam doença? – esses questionamentos foram considerados imprescindíveis para a avaliação do uso de antibióticos na alimentação animal em relação ao risco potencial para as populações humanas. Algumas dessas perguntas já foram respondidas.

Os estudos sobre a resistência à oxitetraciclina e estreptotricina em *E. coli* e sobre resistência a glicopeptídeo e estreptogamina nos *Enterococcus* revelaram que os reservatórios de genes resistentes na flora de diferentes ecossistemas podem se comunicar. Como comensais no trato digestivo, ambas as espécies têm um papel significativo na aquisição e disseminação de genes resistentes, como provavelmente o fazem outras bactérias desse ecossistema, como *Lactococci*. O papel desempenhado por *E. faecium* como patógeno em pacientes com comprometimento imunológico, o desenvolvimento de resistência nessas espécies (especialmente a transferência de resistência a glicopeptídios, antibióticos de último recurso) e a escassez de novos antibióticos reavivaram o debate sobre o uso de antibióticos como promotores de crescimento e seu papel na geração de resistência a antibióticos.

Um outro ponto que emergiu do estudo da resistência a antibióticos diz respeito ao aumento da severidade de algumas doenças quando medicadas com um determinado antibiótico; por exemplo, antibióticos inibidores de DNA aumentaram a severidade da infecção de *E. coli*: O157 em camundongos, enquanto o uso de fosfomicina foi benéfico no controle dessa infecção (Skold, 2000).

O uso de antibióticos em animais pode contribuir para a seleção e disseminação de resistência entre populações de bactérias em animais, especialmente ao estar

associada a outras práticas comuns, como confinamentos e transporte de animais portadores entre rebanhos ou regiões.

O fornecimento de antibióticos como promotores de crescimento expõe as bactérias a concentrações subletais de drogas por períodos relativamente longos, podendo contribuir para a seleção e manutenção de populações resistentes. Microorganismos que toleram os efeitos das drogas sobrevivem e se multiplicam, excluindo as populações que não são resistentes e não podem sobreviver. Algumas vezes a maioria dos animais de um rebanho recebe doses terapêuticas de um agente, como medida profilática ou metafilática, prática que pode conduzir ao desenvolvimento de resistência (McEwen & Fedorka-Cray, 2002).

Transferência de resistência a antibióticos

A resistência antimicrobiana emerge do uso de antimicrobianos em animais e a subsequente transferência de genes de resistência a bactérias entre animais e entre produtos animais e o ambiente.

A resistência pode se manifestar em termos de indivíduo, grupos e rebanhos ou em uma região. Existem três rotas possíveis para o desenvolvimento de resistência a antibióticos: a) bactérias se tornam resistentes no animal e são transferidas a humanos que consomem alimento contaminado por meio de manipulação e preparo inadequados; b) a resistência microbiana a antibióticos se desenvolve na população bacteriana animal, que pode não ser patogênica ao homem, mas pode transferir essa resistência a bactérias humanas; e c) resíduos de antibióticos no alimento dão oportunidade para bactérias humanas desenvolverem resistência (Hardy, 2002).

Entre os fatores que determinam a seleção e disseminação da resistência, estão: espécie animal, dose, duração do tratamento, número de animais tratados, práticas de manejo animal, transporte animal e potencial para disseminação ambiental. Por exemplo, esterco de animais criados em condições intensivas é espalhado em pastagens e capineiras, como fertilizantes (McEwen & Fedorka-Cray, 2002).

Há muitas possibilidades de comunicação entre grandes reservatórios transferíveis de resistência a antibióticos, hospitais e produção animal. A principal rota de transmissão aos seres humanos é via cadeia alimentar: de seres humanos para animais domésticos, que tem origem nos hospitais, disseminando-se por meio

das fezes e esgotos (Witte et al., 2000), e disseminada com clones de linhagens bacterianas ou por transferência horizontal entre diferentes linhagens.

Transferência de resistência a glicopeptídios

A resistência de *Enterococcus* aos antibióticos glicopeptídios é um motivo de grande preocupação. Os glicopeptídios são utilizados como antibióticos de reserva no tratamento de infecções causadas por *Enterococcus* resistentes à ampicilina e por estafilococos com resistência múltipla a antibióticos. Esses antibióticos também são indicados para pacientes alérgicos à penicilina. Relatos de vários países europeus documentaram surtos de infecções por *Enterococcus* resistentes à vancomicina, um glicopeptídio (Anadón & Martinez-Larranaga, 1999).

Witte et al. (2000) apresentaram dados sobre a transferência de resistência a glicopeptídios, que ilustram de maneira clara esse processo em bactérias, mostrados a seguir. Dados sobre resistência a antimicrobianos usados em medicina veterinária (tetraciclinas; macrolídios, lincosamidas e estreptograminas; β -lactams; aminoglicosídeos; sulfonamidas e trimetropina; fluoroquinolonas; cloranfenicol e florfenicol) são encontrados em Schwartz & Chaslus-Dancla (2001).

A base da resistência a glicopeptídios em *Enterococci* é fenotípica e genotipicamente heterogênea, mas se baseia no mesmo princípio: clivagem do terminal D-alanina dos grupos finais D-ala-D-ala do ácido muramínico como precursor de parede celular por peptidases e substituição por ácido D- β - hidroxílico por ação de uma ligase (Witte et al., 2000).

Glicopeptídios não podem bloquear os correspondentes depsipeptídios como fazem com ácido muramínico D-ala-D-ala. Os genes do mecanismo de resistência, ligase, peptidase e desidrogenase estão inativos na ausência do glicopeptídio. Sua expressão é regulada por um processo com sensor ativado pela perturbação da síntese de membrana celular por glicopeptídios (ou alguns outros antibióticos com atividade na parede celular) e promove a defosforilação de um regulador de resposta, que ativa a região promotora do *operon* de resistência.

Modos de disseminação do grupo genético Van A

O genótipo Van A, mais observado, media a resistência ao glicopeptídeo de alto nível, vancomicina, teicoplanina e avoparcina podendo induzir à expressão. No caso dos genótipos Van B e Van D, apenas vancomicina pode induzir. O grupamento de gene van A localiza-se nos transposons do tipo Tn1546. Geralmente esses transposons estão integrados a plasmídios de conjugação que conferem conjugação entre *Enterococci*, mas também deste para outras bactérias gram-positivas.

A disseminação do grupo genético Van A provavelmente dá-se pela integração em diferentes plasmídios de conjugação e transferência freqüente entre diferentes linhagens de bactérias. A ocorrência dos mesmos subtipos de resistência a glicopeptídeos de origem humana e animal indica a comunicação dos reservatórios de resistência gênica.

Seleção de resistência a avoparcina como promotor de crescimento

A avoparcina tem um papel importante na seleção para a emergência e difusão de resistência a glicopeptídeos na produção animal (Tabela 2). Há indicações da disseminação da resistência a glicopeptídeos por meio do consumo de produtos cárneos.

Disseminação da resistência a estreptograminas por patógenos gram-positivos

Estreptograminas são uma mistura de dois compostos químicos não relacionados, A e B, que agem sinergicamente *in vivo* contra patógenos gram-positivos, como *Estafilococcus*, *Streptococcus* e *Enterococcus*. Quinupristina/dalfopristina é uma combinação utilizada como antibiótico de último recurso em infecções resistentes a glicopeptídeos.

A resistência contra compostos B é bastante disseminada entre *Enterococcus* e é mediada pelo grupo gênico *ermB* (por exemplo, no Tn917) que confere resistência a B- macrolídios-lincosamida-estreptogramina.

Tabela 2. Substâncias antibacterianas usadas como aditivos alimentares em produção animal na Europa.

<i>Composto</i>	<i>Classe</i>	<i>Modo de ação</i>	<i>Mecanismo da resistência conhecido</i>	<i>Resistência cruzada</i>	<i>Uso</i>
Olaquinodix	Quinoxalina	Inibição da síntese de DNA	Sem redução?	Outras quinoxalinas	Parada em julho/1999
Bacitracina de zinco	Poli-peptídeos	Inibe defosforilação de carreador lipídico (undecaprenilpirofosfato) de precursores da parede celular	Mutação espontânea, não caracterizada	Desconhecida	Parada em janeiro/1999
Flavomicina	Fosfoglicolípido	Inibição da síntese da parede celular	Desconhecido	Desconhecido	Em uso
Monensina, salinomicina	Ionóforos	Desagregação da membrana citoplasmática	Desconhecido	Desconhecido	Em uso
Tilisina	Macrolídeos	Ligação à subunidade ribossômica 50S inibição da ligação de aminoacil-RNAt e peptidil transferase	Metilação de 23S RNAr na posição 2058	Quando constitutivo; todos macrolídeos, lincosamidas, estreptogramina-B	Parada em janeiro/1999
Virginia-micina	Estreptogramina	Inibição da mudança conformacional da proteína ribossomal 24S, evitando a extensão da cadeia protéica	O-hidrolase, mecanismo de porteiro?, acetiltransferase	Outras estreptograminas	Parada em janeiro/1999
Avoparcina	Glicopeptídeos	Inibição da transglicosilação	Modificação de precursor de peptidoglicanas	Vancomicina, teicoplanina, daptomicina, avoparcina	Parada em abril/1997
Avilamicina	Oligossacarídeos	Inibição da ligação de formilmetionina ao ribossomo	Não identificado ainda	Everninomicinas	Em uso

Fonte: Witte et al., 2000.

A mistura de estreptograminas A e B ultrapassa a resistência a compostos B, mas é inativada na resistência a compostos A. A resistência contra estreptogramina A em *Enterococcus* é mediada por acetiltransferase Sat A da estreptogramina. O composto A da estreptogramina dalfopristina é estruturalmente relacionado com a estreptogramina virginiamicina, que é usada como promotor de crescimento.

SatA media a resistência tanto à virginiamicina, como à quinupristina/dalfopristina. Recentemente se demonstrou a presença de novo gene enterocócico, Sat G, que codifica uma acetiltransferase alternativa que confere resistência a compostos de estreptogramina A, e então, para quinupristina/dalfopristina. Há indicações de que criatórios avícolas são reservatórios de Sat G (Witte et al., 2000).

Resíduos de antibióticos

Análise de risco no controle de resíduos de antimicrobianos em produtos de origem animal

A administração via oral de antibióticos é responsável por 20% dos resíduos presentes na carne e no leite (Gewehr & Lawisch, 2003). Problemas potencialmente associados com resíduos de antibióticos são reações alérgicas, efeitos tóxicos diretos e mudança nos padrões de resistência de bactérias expostas a antibióticos (Jacobson & Consumer, 2003). Subprodutos de origem animal usados como alimentos apresentaram bactérias resistentes à amoxicilina e ampicilina (Hofacre et al., 2001).

Os sistemas de regulamentação são elaborados com o objetivo de assegurar que resíduos de drogas e seus metabólitos nos produtos de origem animal não excedam o limiar de perigo. A análise de risco é um processo científico composto de vários procedimentos: avaliação de risco que compreende a identificação e caracterização do perigo; avaliação de exposição e caracterização do risco; manejo de risco; e comunicação do risco. O procedimento padrão para avaliar a segurança de contaminantes químicos no alimento para consumo humano na União Européia é definido pela ingestão diária aceitável – IDA. O estabelecimento da IDA, a partir da determinação do nível no qual não há efeito observável – NOEL –, e a aplicação de um fator de segurança adequado são a base da identificação e caracterização do perigo. O procedimento de IDA foi desenvolvido considerando os efeitos determinados na toxicologia clássica e é aplicado aos

resultados de estudos de toxidez padronizados em animais de laboratório. O NOEL para o critério mais sensível, normalmente nas mais sensíveis espécies de animais experimentais, é o ponto de partida. A IDA é então calculada pela divisão desse valor por um fator de segurança, geralmente 100, assumindo que humanos são dez vezes mais sensíveis que animais e que na população humana há uma variação de dez vezes na faixa de sensibilidade. A IDA representaria, então, o total de resíduos de droga, na forma original e seus metabólitos, que poderia ser consumida diariamente com segurança durante a vida (Anadón & Martinez-Larranaga, 1999).

A IDA pode também ser calculada usando dados farmacológicos ou microbiológicos dos níveis de efeitos não-farmacológicos observados. Entretanto, o impacto de baixos níveis de antibióticos na flora gastrointestinal não foi examinado diretamente nesses estudos de toxicologia. Para substâncias com atividade microbiológica, o que se usa é o principal efeito microbiológico adverso, advindo dos resíduos de drogas antimicrobianas em alimentos de origem animal atuando na flora bacteriana do trato gastrointestinal humano, especialmente no cólon (Anadón & Martinez-Larranaga, 1999). Já a capacidade que têm os antimicrobianos de induzir resistência bacteriana, atuando diretamente nas bactérias indígenas do TGI humano, é avaliada por meio da determinação *in vitro* ou *in vivo* da concentração inibitória mínima – CIM – de um antimicrobiano (Organization Internationale des Epizooties – OIE –, 2001).

A identificação do perfil de resíduos e seu declínio no animal tratado embasa a definição dos limites máximos de resíduos – LMRs. A União Européia prevê o estabelecimento de LMRs para todos os tecidos comestíveis (Anadón & Martinez-Larranaga, 1999). Órgãos como fígado e rins removem as drogas residuais e reduzem significativamente o conteúdo das mesmas na carne, sendo esses os tecidos preferencialmente testados para resíduos.

Entende-se por LMR de uma substância química a quantidade dela que pode estar presente em um quilo de alimento e que, se ingerida pelo ser humano durante toda sua vida, não produza efeitos indesejáveis ou tóxicos (FAO, 1998). O máximo consumo diário teórico – MCDT – também é calculado, baseado na soma da ingestão média de cada produto e seu respectivo LMR (Anadón & Martinez-Larranaga, 1999).

O *Codex alimentarius*, por meio de um grupo de especialistas que compõem o

Joint Expert Committee on Food Additives – JECFA –, indica qual o grau aceitável de resíduos de medicamentos de uso veterinário em alimentos de origem animal (FAO, 1993). Testes são necessários para embasar as decisões do *Codex alimentarius*, em especial quanto aos aditivos em rações (Organization Internationale des Epizooties, 2001).

O LMR estabelecido para antibióticos serve para proteger o consumidor. Por exemplo, as lactonas macrocíclicas são um grupo de antibióticos largamente utilizados em medicina humana e animal. Tilosina é um antibiótico desse grupo, ativo principalmente contra bactérias gram-positivas. Utilizada como agente terapêutico, reduz a incidência de abscesso de fígado (Aarestrup et al., 1998; Stock & Mader, 1998). Assim, para proteção do consumidor, em músculo bovino o LMR da tilosina é definido em torno de $100 \mu\text{g por kg}^{-1}$ (Draisci et al., 2001). Antibióticos macrolídeos incluindo eritromicina e tilosina, são determinados principalmente por ensaios microbiológicos, suficientes para as exigências das autoridades. Além desses ensaios, um método de ELISA está disponível para realização de avaliações de macrolídeos em tecido animal (Draisci et al., 2001).

Também o radioimunoensaio foi usado (Tanaka et al., 1988) para monitorar eritromicina A e seus derivados químicos; esse método, embora rápido, sensível e específico, requer o uso de materiais radioativos, nem sempre disponíveis ou desejados. Outros métodos químicos baseados em cromatografia líquida, associados com fluorimetria – LC-FL –, quimioluminescência – LC-CL –, ultravioleta – LC-UV –, detecção eletroquímica – LC-ECD – e cromatografia líquida e gasosa associada à espectrometria de massa, foram utilizados na detecção de macrolídeos em tecido animal. Entretanto, esses métodos requerem instrumentação sofisticada e cara, aliadas à necessidade de técnicos qualificados.

Os LMRs são fixados tomando por base dados relevantes de toxicologia, incluindo a informação sobre absorção, distribuição, metabolismo e excreção. Informações são fornecidas sobre absorção, distribuição e excreção em animais de laboratório e domésticos; fatores cinéticos que podem alterar a relação entre resposta e dose; efeitos tóxicos agudos e crônicos; efeitos na reprodução e no desenvolvimento; e genética e efeitos correlatos, incluindo efeitos carcinogênicos. Como os animais domésticos recebem aditivos alimentares por períodos de tempo às vezes longos, conhecimento de bioacumulação, toxidez crônica, incluindo o risco de interações entre droga e aditivos alimentares e de

problemas associados com resíduos são importantes (Anadón & Martinez-Larranaga, 1999).

Existe uma tendência na União Européia para o uso de antibióticos como promotores de crescimento que sejam pouco ou nada absorvidos pelo trato gastrointestinal. Sabe-se, por exemplo, que avilamicina e ardacina são absorvidos em alguma extensão, enquanto tilosina, espiramicina, olaquinox e carbadox são bem absorvidos após a administração oral (Anadón & Martinez-Larranaga, 1999).

Resíduos de ionóforos poliésteres em alimentos de origem animal podem causar efeitos adversos na saúde humana, já que possuem potentes propriedades cardiovasculares, mas não havia relato de intoxicação em humanos associada com o consumo de carne (Anadón & Martinez-Larranaga, 1999). No caso da monensina, por exemplo, a excreção parece ser rápida, após sua ingestão, com mínima acumulação nos tecidos animais. Mas existe a possibilidade de que a taxa de excreção metabólica seja excedida, e efeitos tóxicos da monensina surjam em animais recebendo dieta com monensina ou em seres humanos consumindo tecidos desses animais. Os ionóforos podem afetar os processos da membrana celular de células eucarióticas e de organelas intracelulares (como a mitocôndria), especialmente os sistemas dependentes de gradiente elétrico, excitabilidade ou regulação osmótica. Aumentos na liberação de catecolaminas e na peroxidação de lipídeos podem contribuir para o desequilíbrio celular ligado à necrose muscular observada nas intoxicações. As células do intestino delgado seriam o provável alvo inicial de ação dos ionóforos, que poderiam alterar a absorção de aminoácidos e açúcares (Bergen & Bates, 1984; Novilla, 1992). Não foram encontrados dados a respeito da eliminação de ionóforos no leite.

A comunicação de risco significa tornar a informação disponível de forma transparente, explicando a extensão do risco e como é manejado, em uma perspectiva ampla (Anadón & Martinez-Larranaga, 1999). Produtores, confinadores e médicos-veterinários devem ter acesso a informações atualizadas sobre o tempo necessário antes do abate ou ordenha de animais que receberam antibióticos.

Uma das medidas de manejo de risco envolve a estipulação dos prazos de carência adequados. Estes são estipulados a partir de dados de metabolismo e farmacocinética, assegurando que não restem resíduos tóxicos acima dos LMRs

nos produtos de origem animal. Para a determinação desse prazo de carência são colhidas amostras em um determinado número mínimo de animais por ponto de amostragem definido de acordo com a espécie, a intervalos de tempo definidos em função do tempo de eliminação da droga (Anadón & Martinez-Larranaga, 1999).

Gado de corte

Em bovinos de corte criados em sistema extensivo, o uso de antibióticos é realizado com baixo índice de controle. Ocorre geralmente, a partir de problemas com bezerros, diarreias e pneumonias, ou mesmo com animais que apresentam febre ou lesões específicas. Assim, o controle da necessidade do uso específico e os possíveis monitoramentos com relação à resistência bacteriana aos produtos usados são realizados em uma escala menor.

Teste de suscetibilidade antimicrobiana para isoladas de *Salmonella* associadas ao confinamento de bovinos revelou que 21,7% das amostras foram resistentes à tetraciclina comparados com 11,2% de isolados associados com bovinos não confinados (Beach et al., 2002).

Carnes provenientes de estoques comerciais são fontes potenciais de bactérias resistentes a antibióticos. O uso indiscriminado de agentes antimicrobianos nos rebanhos vem criando um amplo reservatório de *Salmonella* antibiótico-resistente. Em uma amostragem feita em Washington, Estados Unidos, constatou-se que 20% das carnes de bovinos, suínos e aves, compradas em supermercados, estavam contaminadas com *Salmonella*. Entre as salmonelas isoladas, foi detectada a cepa resistente à ceftriaxone e a cepa *Salmonella typhimurium* DT104, relacionada com surtos de salmonelose de origem alimentar (Quirk, 2001).

A virginiamicina foi usada por décadas como um promotor de crescimento em fazendas. Entre julho de 1998 e junho de 1999, a fiscalização encontrou, em quatro estados americanos, mais de 58% de produtos de aves contaminados com *Enterococcus faecium* resistente à quinupristina-dalfopristina. Baixo nível de resistência foi encontrado em apenas três de 334 amostras de fezes humanas. Na Europa foram encontradas amostras de *E. faecium* com alto nível de resistência em isolados humanos a partir de contaminação alimentar (Quirk, 2001).

Gado de leite

No gado leiteiro, antibióticos são usados para tratamento principalmente de doenças de bezerros e de vacas adultas. As principais doenças de bezerros que necessitam a prescrição de antibióticos são diarreias, pneumonias e tristeza parasitária bovina. A última é uma doença causada principalmente pela associação dos protozoários *Babesia* spp. e da riquetsia *Anaplasma* spp., que parasitam os eritrócitos dos animais. As espécies de anaplasma são sensíveis às tetraciclina, que são usadas para o controle da doença em associação a agentes específicos para a babesiose.

Na vaca adulta, os principais usos de antibacterianos são para tratamento de mastite, metrite, problemas de casco e lavagens uterinas após o parto. O uso profilático de antimicrobianos no final do período de lactação é um componente importante dos programas de controle de mastite. O antibiótico é aplicado por via intramamária no final do período de lactação, geralmente dois meses antes do parto, quando se interrompe o processo de ordenha e se inicia a involução do úbere. Apesar do amplo uso da antibioticoterapia na secagem da vaca leiteira, por um período superior a 20 anos, não há evidências de resistência associada ao tratamento (Erskine et al., 2002).

Um tratamento que é ocasionalmente administrado em rebanhos leiteiros no Brasil, embora sujeito a controvérsias, é a aplicação de isoniazida para tuberculose bovina. O tratamento é aplicado durante alguns meses, em todo o rebanho ou somente nos animais doentes (Brito, 2003).

Em diversos países, o número de bases disponíveis para o tratamento de vacas leiteiras é limitado. Isso é particularmente enfatizado no tratamento de mastite, por causa do risco de resíduos no leite e na carne de vacas descartadas. No Brasil, antibióticos de todas as classes estão disponíveis, com exceção de cloranfenicol, furazolidona e nitrofurazona. O uso destes três produtos é proibido em preparações farmacêuticas de uso veterinário, em rações e como aditivo alimentar para animais cujos produtos sejam destinados à alimentação humana (Brito, 2003).

Em bovinos leiteiros, a monensina pode ser usada somente na criação de novilhas de reposição. Os efeitos encontrados em trabalhos experimentais controlados são aumento da produção em cerca de 5%, redução no conteúdo de gordura e propriedades anticetogênicas.

Os principais microorganismos patogênicos associados a doenças transmitidas pelo leite são: *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, produtora de enterotoxina semelhante à de *Shigella* – STEC –, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni*, *Yersinia enterocolitica*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e espécies de *Brucella*.

A maioria dos casos de intoxicação alimentar por STEC (*E. coli* 0157:H7) está relacionada com consumo de carne bovina, mas têm sido relatadas infecções associadas ao consumo de leite cru, queijo preparado com leite cru e alguns casos relacionados com o consumo de leite pasteurizado, o que mostra a possibilidade de contaminação pós-pasteurização (Teuber & Perreten, 2000).

Staphylococcus aureus e espécies de *Staphylococcus* coagulase negativo resistentes a antibióticos foram isolados de diferentes tipos de queijos preparados a partir de leite cru e de produtos preparados de carne crua. As resistências mais freqüentes e caracterizadas no nível molecular foram para cloranfenicol, tetraciclina, eritromicina e lincomicina. Os genes de resistência a cloranfenicol foram localizados em *S. xylosus* e *S. caprae* em plasmídios de 3,8 a 4,3 kb, expressando cloranfenicol acetiltransferase. Todas as amostras resistentes à tetraciclina apresentavam plasmídios de 4,4 kb expressando a proteína de efluxo de tetraciclina TetK (Brito, 2003).

Alguns *Staphylococcus* resistentes à eritromicina continham os genes de efluxo de eritromicina – *msr* –, localizados em plasmídio e no cromossomo. Os genes de resistência à lincomicina e clindamicina – *linA* – foram encontrados também em plasmídio (Werckenthin et al., 2001).

No Brasil, a resistência à penicilina varia de 20% a 100%, mas a porcentagem de resistência aos outros antibióticos é mais baixa. Os estafilococos coagulase negativos são menos suscetíveis aos agentes antibacterianos (Brito, 2003).

Bactérias do gênero *Enterococcus* sp., principalmente as espécies *E. faecalis* e *E. faecium*, podem aparecer como contaminantes de produtos lácteos. Em 15 amostras de queijos, *E. faecalis*, *E. faecium* e *E. durans* apresentavam resistência a um ou mais dos antibióticos: penicilina, cefalotina, furadoin, fucidin, eritromicina, tetraciclina e cloranfenicol (Teuber & Perreten, 2000).

Em gado de leite, a mastite bovina é não somente responsável pela maior parte

do uso de antibióticos, como também a causa mais comum de aparecimento de resíduos de antibióticos no leite. Mais de 135 espécies, subespécies e sorotipos de microorganismos já foram isolados de infecções da glândula mamária bovina, mas a maioria das infecções é causada por espécies de *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Corynebacterium* e bactérias gram-negativas, principalmente do grupo dos coliformes (Brito, 2003).

Por ser um dos agentes mais freqüentemente isolados, *S. aureus* tem sido objeto de numerosos estudos de resistência a antimicrobianos nos últimos 20 anos. Estudos de larga escala, realizados em diversos países, mostram que a resistência à penicilina está em torno de 60%. Na Alemanha, a resistência à tetraciclina, canamicina, neomicina e sulfonamidas decresceu entre 1992 e 1997, sendo detectada em menos de 15% dos isolados em 1997. Observação semelhante quanto ao aumento de suscetibilidade foi feita para isolados da França, Bélgica e EUA. A avaliação da suscetibilidade de *S. aureus* de 11 países mostrou que a prevalência de amostras resistentes a diversos antibacterianos, usados rotineiramente para tratamento da mastite, foi, em geral, baixa, independente do país de origem (Erskine et al., 2002).

No grupo dos estreptococos, *S. agalactiae* é o único patógeno da mastite que pode ser erradicado dos rebanhos. A maioria das amostras é suscetível à penicilina e a outros betalactâmicos, mas é resistente aos aminoglicosídeos (estreptomicina, neomicina e gentamicina). O grupo dos estreptococos do ambiente, importante fonte de infecção, apresenta maior resistência aos antibacterianos.

Sistemas de alimentação

Nutrição

A nutrição é uma determinante da resposta imunológica e a má-nutrição é a maior causa de imunodeficiência no mundo. Má-nutrição ocorre quando a qualidade da dieta, mas não necessariamente a quantidade, é inadequada para atender aos requisitos nutricionais. Proteínas, aminoácidos, ácidos graxos, minerais ou vitaminas podem estar em quantidades inadequadas, ou pode haver desequilíbrios que reduzam a utilização de um nutriente (Brown, 1994).

A má-nutrição protéico-energética está associada com uma redução significativa da imunidade celular, função fagocitária, sistema do complemento, concentra-

ções de imunoglobulina A e produção de citocinas. Também a supernutrição reduz a imunidade (Chandra, 1997).

A deficiência de um único nutriente também resulta em alteração da resposta imunológica, observada mesmo em deficiências brandas. Influências significativas de zinco, selênio, cobre, vitaminas A, C, E e B6 e de ácido fólico na resposta imune foram observadas (Chandra, 1997).

A habilidade dos animais lidarem com infecções pode ser influenciada pela deficiência mineral, particularmente pelos macromelementos Mg e P, e os microelementos Zn, Fe, Cu e Se. Deficiências de Zn, Fe, Cu e Se resultaram em menor resistência a doenças por meio de redução na resposta imune ou função leucocitária defeituosa (Miller, 1985). O papel do selênio na ação bactericida de fagócitos, por exemplo, está associada com funções oxidativas importantes para a morte da bactéria fagocitada (Miller, 1985).

A integridade celular é fundamental para recepção e resposta a mensagens necessárias na coordenação da resposta imune. A integridade celular é afetada pela deficiência de agentes antioxidantes (Latshaw, 1991). Agentes oxidantes podem danificar tecidos se os antioxidantes estão deficientes. Esses oxidantes são produzidos durante o metabolismo e podem aumentar substancialmente durante o exercício, estresse, lesões aos tecidos, infecção e detoxicação de uma gama de compostos.

Estresse pode preceder uma infecção, decrescendo a concentração de antioxidantes necessários mais tarde para uma resposta imune ativa. Antioxidantes como vitamina E, betacaroteno, e microelementos como selênio, cobre, zinco e manganês em enzimas são muito importantes na proteção dos tecidos animais da destruição oxidativa. Essa proteção também resulta em melhora na resposta imune que reduz a incidência de mastite em vacas leiteiras e a incidência de doenças infecciosas em bovinos sob estresse ao chegar ao confinamento. A quantidade de nutrientes necessária para a resposta imune parece ser maior que a sugerida em tabelas de exigências (Nockels, 1996).

Probióticos e prebióticos

Vários suplementos alimentares podem contribuir para o melhor desempenho dos animais em crescimento e terminação. A população microbiana de bactérias produtoras de ácido láctico no intestino depende do tipo de animal e do regime

alimentar, consistindo de vários gêneros e espécies. Lactobacilos são bactérias anaeróbicas facultativas, e podem utilizar a maioria dos carboidratos como fonte de energia; o principal produto final de fermentação é o ácido láctico.

O uso de lactobacilos tem-se dado, principalmente, na alimentação de bezerros jovens. A sua utilização baseia-se no fato de que estresse e doenças alteram o equilíbrio de microorganismos no TGI e favorecem a proliferação de patógenos (Nicodemo, 2001).

A infecção por *Clostridium* sp. é um exemplo de doenças que reduzem a produtividade e lucratividade. Acredita-se que probióticos poderiam reduzir o risco de doenças intestinais, ou até mesmo de outras doenças. É difícil deslocar os patógenos, então a introdução de probióticos deve ser feita logo que a flora normal inicia a colonização do TGI (Reid & Friendship, 2002).

O TGI é povoado por diversas populações de bactérias. As bactérias que causam problemas digestivos geralmente precisam se alojar no epitélio intestinal para poderem produzir toxinas e estarem prontas a se multiplicar em uma taxa mais rápida que a taxa com que são removidas pelos movimentos peristálticos. Ao aumentar o número de organismos favoráveis no intestino, os efeitos adversos das bactérias patogênicas podem ser minimizados (Hardy, 2002).

Lactobacilos criam um ambiente desfavorável aos patógenos, como *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp. e *Escherichia coli* enteropatogênica. Várias teorias foram desenvolvidas para tentar explicar o modo de ação dos lactobacilos, incluindo a redução do pH pela produção de ácido láctico e peróxido de hidrogênio, produção de bacteriocinas por lactobacilos e estreptococos, inibição da atividade de enterotoxinas e adesão à parede do trato intestinal, evitando colonização por patógenos. *Lactobacillus* sp. pode também produzir amilase, auxiliando na digestão do alimento (Nicodemo, 2001).

A redução da concentração de patógenos no trato gastrintestinal pode ser em parte à sinalização celular, em que *Lactobacillus* “desliga” fatores de virulência de patógenos ou sinaliza para a produção de muco pelo hospedeiro, bloqueando a patogenicidade (Reid & Friendship, 2002).

Os resultados da suplementação de probióticos são inconsistentes. Sugere-se que para que os lactobacilos sejam eficazes, alguns critérios devem ser atendi-

dos: o animal suplementado deve estar sob estresse – assim, animais mantidos em condições sanitárias muito boas têm menor probabilidade de responder à suplementação com *Lactobacillus*; as bactérias devem ser capazes de alcançar e colonizar o trato intestinal (resistência ao ácido clorídrico, ácidos biliares, lisozima, fenol e líquido ruminal); a bactéria deve apresentar alta taxa de produção de ácidos; deve haver presença de número suficiente de bactérias viáveis, e as bactérias devem ser rapidamente ativadas e apresentar alta taxa de crescimento (Nicodemo, 2001).

Mesmo a suplementação do extrato com *Lactobacillus* não viáveis também pode ser benéfica. Nas primeiras semanas de suplementação é que o efeito de *Lactobacillus* é mais significativo e a suplementação com este reduz consistentemente a incidência de diarreia nos bezerros (Nicodemo, 2001).

A aplicação de probióticos à dieta humana é bastante grande, e há crescente evidência de que algumas linhagens têm um efeito benéfico sobre o hospedeiro, ainda que temporário. Aparentemente a flora intestinal normal de alguns indivíduos é muito estável, e linhagens exógenas não se integram inteiramente. Com a parada da suplementação, probióticos são eliminados em poucas semanas. Atribui-se a algumas linhagens o estímulo da resposta imunológica, mas esse aspecto precisa ainda de muitos estudos até que se descreva como poderia se dar a modulação (Reid & Friendship, 2002).

Foram identificados nutrientes que estimulam preferencialmente o crescimento de *Lactobacilli*. São eles: inulina, oligofrutose, ácido ascórbico, butirato, proantocianidinas e alguns extratos vegetais, como alho e tomilho (Hardy, 2002; Reid & Friendship, 2002).

Medidas de controle

O principal fator de risco para o aumento da resistência é o aumento do uso de agentes antimicrobianos. Como as bactérias da flora humana fecal são consideradas importante reservatório de genes de resistência para patógenos humanos, propôs-se colocar como meta nos programas de saúde pública a obtenção de um baixo nível de linhagens resistentes nos seres humanos, da mesma maneira que se buscam alcançar pressão sangüínea normal e baixos níveis de colesterol. Como atualmente estão sendo encontrados organismos multi-resistentes de difícil controle com os antibióticos disponíveis, cada possível fonte de resistência deve

ser controlada. Assim, baixo nível de resistência na flora intestinal de animais utilizados na alimentação humana passa a ser considerado uma característica de segurança desejável e uma marca de qualidade em produtos animais.

Esse objetivo só pode ser alcançado com a redução do uso de antibióticos para animais. A exigência de antibióticos na terapia veterinária e na prevenção de infecções bacterianas em animais pode ser minimizada pela melhoria nas técnicas de manejo utilizadas, erradicação de doenças, uso otimizado das vacinas disponíveis e desenvolvimento de novas vacinas. Se antibióticos forem necessários, deve ser priorizado o uso de moléculas de pequeno espectro. As medidas que contribuem para a saúde do rebanho incluem quarentenas, vacinações e tratamento de endo e ectoparasitos, seleção genética para rusticidade e uso de anti-sépticos e probióticos. A redução do risco de infecções com impacto nas infecções secundárias, diminui a necessidade de terapia com antibiótico (McEwen & Fedorka-Cray, 2002).

Na Escandinávia, há relatos de poucos efeitos negativos da retirada de antibióticos como promotores de crescimento, ao mesmo tempo em que se observou redução significativa na resistência bacteriana. Nos Estados Unidos, estima-se que 60% dos bovinos de corte recebam dietas medicadas com antimicrobianos. Ainda assim, espera-se que os produtores que adotam boas práticas de manejo não sejam afetados significativamente pela retirada desses agentes do sistema de produção, em parte porque promotores de crescimento antimicrobianos não são particularmente efetivos a não ser que os animais estejam sob estresse em condições sanitárias precárias (McEwen & Fedorka-Cray, 2002).

Abordagens para minimizar o desenvolvimento de resistência a antibióticos incluem programas de vigilância, uso de recomendações conservadoras e campanhas educativas. Recomenda-se o estabelecimento de um programa nacional de monitoramento de resistência a antibióticos para bactérias de origem animal.

Esses programas – dotados de procedimentos padronizados de colheita, cultura de isolados e metodologias para os testes – podem auxiliar na aquisição sistemática de dados descritivos do uso de antibióticos, extensão e tendências temporais de suscetibilidade a antibióticos das espécies e sorotipos de bactérias escolhidas como indicadoras, a identificação de resistências em seres humanos e animais quando surgem, promovendo o uso criterioso de antibióticos e identifi-

cando áreas onde há necessidade de detalhamento. O acompanhamento do desenvolvimento de resistência em bactérias comensalistas é importante, porque essas bactérias podem servir de reservatórios de determinantes de resistência e porque são mais comuns que as patógenas (McEwen & Fedorka-Cray, 2002).

A prevenção de contaminação por antibiótico se vale também da vigilância de contaminantes nos produtos animais, incluindo a taxa de detecção de resíduos e a proporção de valores superiores aos níveis permitidos, como foi comentado anteriormente. Diversas práticas que contribuem para a redução dos resíduos podem ser implementadas no processamento do produto – lavagem, congelamento, cozimento –; esses procedimentos podem reduzir também o efeito das drogas (Jacobson & Consumer, 2003).

Ao agrupar um grande número de animais, a disseminação de bactérias resistentes é facilitada. Melhoria no controle de doenças animais e programas de exclusão de doenças são conhecidos por práticas de biossegurança (McEwen & Fedorka-Cray, 2002). Ao se seguirem as recomendações constantes do correto manejo sanitário, reduzem-se os riscos de doenças, além de garantir a competitividade da atividade; facilitam-se, ainda, o rastreamento e a certificação, contribuindo para assegurar a saúde do consumidor final e a do pessoal envolvido com o manejo dos animais (Euclides Filho et al., 2002).

O conhecimento do comportamento animal aumenta a produtividade, facilita o manejo, reduz o estresse, aumenta a segurança do trabalhador e o bem-estar animal. Bovinos quando estão agitados ou excitados podem causar lesões graves a si mesmos ou a quem os manipula. Estudos mostraram que o estresse está associado a quedas nas taxas de concepção, redução na resposta imune e na função ruminal (Grandin, 2003).

Biossegurança

Mostrou-se como, para reduzir o desenvolvimento de resistência, alguns países restringiram o uso de agentes antimicrobianos em alimentos. O Brasil define as normas de inspeção e fiscalização de produtos destinados à alimentação animal na Lei nº 6.198, de 26 de dezembro de 1974 e seu subsequente Decreto nº 76.986, de 6 de janeiro de 1976.

Duas portarias ministeriais regulamentam o uso dos antimicrobianos, que são: a Portaria nº 193, de 12 de maio de 1998, que trata da proibição do uso de

cloranfenicol, penicilinas, tetraciclinas e sulfonamidas sistêmicas (em substituição à Portaria nº 159), e a Portaria nº 448, de 10 de setembro de 1998, proíbe o uso, fabricação e importação de cloranfenicol, furazolidona e nitrofurazona como aditivos em rações animais.

Avoparcina está proibida por tempo indeterminado, pela Portaria nº 818-SVS/MS, de 16 de outubro de 1998. Ainda é permitido o uso de avilamicina, bacitracina de zinco, sulfato de tilosina e virginiamicina como promotores de crescimento (Nicodemo, 2001).

Na União Européia, o uso de promotores de crescimento populares, como virginiamicina e bacitracina de zinco foi proibido, de maneira que, além de ionóforos coccidiostáticos, só dois promotores de crescimento continuaram licenciados para uso na alimentação animal: avilamicina e flavomicina. Entretanto, a União Européia já confirmou a proibição do uso de todos os antibióticos como promotores de crescimento, incluindo ionóforos coccidiostáticos até o final de 2005 (Ratcliff, 2003).

Alternativas terapêuticas aos antibióticos - bacteriófagos

O uso de bacteriófagos no controle de infecções é prática corrente em alguns países do leste europeu. Bacteriófagos são vírus que lançam mão do maquinário celular das bactérias e as matam. São conhecidos desde 1896, mas as terapias utilizando bacteriófagos foram deixadas de lado em favor da utilização de antibióticos. Entretanto, o aumento da resistência a antibióticos tem alimentado o crescente interesse nos vírus.

Bacteriófagos são facilmente reprodutíveis e ocorrem em milhões de formas diferentes, sendo encontrados de maneira abundante onde quer que existam bactérias. Bacteriófagos aderem às superfícies externas das bactérias e injetam nelas seu DNA. Com sua maquinaria celular controlada pelo bacteriófago, as bactérias têm que seguir as instruções do DNA estranho e fazem proteínas do bacteriófago, e mais DNA. Eles se auto-estruturam em novos bacteriófagos, que irrompem para fora das bactérias, que são destruídas nesse processo.

Embora tenha existido muito entusiasmo com as possibilidades de uso de bacteriófagos, o controle de qualidade dos produtos comercializados era muito precário, comprometendo sua eficácia. Entre as vantagens do uso de

bacteriófagos está sua especificidade: as enzimas de sua cauda fibrosa (adesinas) só interagem com receptores moleculares espécie específicos na superfície da bactéria. Por isso, bacteriófagos não causam dano às bactérias normais do trato gastrointestinal, que podem ser aniquiladas por antibióticos.

Enquanto a concentração de antibióticos declina a partir do momento de sua administração, bacteriófagos fazem o oposto, multiplicando-se rapidamente. Embora alguns autores considerem que bacteriófagos são autolimitantes, isto é, são eliminados quando as bactérias-alvo desaparecem (MacGregor, 2003), outros afirmam que os bacteriófagos podem sobreviver, auxiliando a manter o hospedeiro em boas condições sanitárias (Randerson, 2003). Bacteriófagos não desencadeiam alergias, provocam poucos efeitos colaterais, são baratos e fáceis de se produzir.

Entre os problemas para sua mais larga utilização, está a exigüidade de trabalhos científicos, por ser esta uma nova linha de pesquisa no ocidente. Como bacteriófagos são muito específicos, algum tempo ocorre entre a determinação do organismo infectante e a produção de bacteriófagos para uso terapêutico, o que pode comprometer o tratamento em casos graves. Nesse caso, uma opção seria utilizar uma combinação de bacteriófagos direcionados contra os prováveis agentes infectantes. Enquanto as bactérias podem desenvolver resistência a antibióticos, não é provável que isso ocorra em relação aos bacteriófagos, que podem sofrer mutação e lutar contra a resistência bacteriana.

Alternativamente, a utilização de combinações de bacteriófagos poderia contornar o problema de resistência. Entretanto, alguns bacteriófagos têm uma relação de sinergia com bactérias, podendo carregar para o DNA do hospedeiro, genes que aumentam a virulência, por exemplo, pela produção de toxinas. Quando mais de uma espécie de vírus infecta uma bactéria, eles podem trocar genes, e haveria risco de que genes não desejáveis fossem disseminados. Daí a necessidade de mais pesquisa e da produção de formulações terapêuticas com bacteriófagos bem caracterizados (MacGregor, 2003).

Escherichia coli O157:H7 é uma das principais responsáveis por envenenamento alimentar em algumas regiões. Três quartos dos casos podem ser relacionados com os animais domésticos, que hospedam a bactéria sem ficarem doentes. A carne pode ser contaminada durante o abate, sendo as fezes também uma via de infecção. Pesquisadores encontraram em carneiros um bacteriófago (CEV1) capaz

de matar 16 das 18 linhagens de *E. coli* tóxicas testadas, ao mesmo tempo em que matava apenas oito de 73 linhagens não-tóxicas de *E. coli*. Em um pequeno teste com carneiros, o bacteriófago reduziu o número de bactérias tóxicas em 99% em dois dias.

O tratamento de rebanhos com bacteriófagos poderia permitir o controle de bactérias envolvidas em zoonoses sem que fosse necessária a administração de preparados com esses organismos para seres humanos, contornando problemas de regulamentação de produtos para uso médico, desde que se prove que bacteriófagos não prejudicam as bactérias da flora humana normal (Randerson, 2003). Uma boa revisão sobre o histórico, o uso terapêutico e os desafios envolvendo o uso de bacteriófagos pode ser encontrada em Sulakvelidze et al. (2001).

Estratégias de manejo de abate na redução da contaminação bacteriana de produtos cárneos

Três abordagens são muito usadas no manejo de riscos: boas práticas de produção; sistemas de manejo de qualidade; e análise de perigo e ponto crítico de controle. Boas práticas de produção consistem em um código de práticas que detalha as tarefas a serem cumpridas e os objetivos que devem ser alcançados. Sistemas de manejo de qualidade tendem a ser direcionados para os objetivos das empresas que os operam. Esses sistemas incluem o sistema de qualidade total e de controle de qualidade, e partem da premissa de que se o trabalho segue as recomendações de operação, os riscos de segurança alimentar são reduzidos. A terceira abordagem, análise de perigo e ponto crítico de controle, é um sistema de controle de processo que tem por objetivo evitar problemas de segurança alimentar, baseado em uma avaliação de risco pró-ativa. Buscam-se identificar os pontos do processo de produção onde problemas de segurança alimentar podem ocorrer e os avalia criticamente. Os pontos onde a falta de controle pode resultar em mudanças inaceitáveis na qualidade do produto são os pontos críticos de controle. O controle ou eliminação da contaminação na fonte é geralmente efetivo na redução ou eliminação de problemas de contaminação posteriores e reduzem a disseminação do contaminante na cadeia de produção (Ratcliff, 2003).

Pré-abate

Algumas práticas de manejo podem auxiliar na redução da carga de bactérias na carcaça. São elas: redução na quantidade de marcas *tag* no couro na fase anterior ao abate; limpeza dos cochos de alimentação e de bebedouros com frequência, de modo a reduzir a contaminação fecal; armazenamento do alimento visando à redução da contaminação com fezes pelos animais; boas práticas de manejo de dejetos; uso de esterco compostado preferencialmente ao esterco bruto em jardins e culturas; e acesso à água de bebida clorada e filtrada, especialmente para trabalhadores rurais e suas famílias (Donkersgoed, 2000).

Processamento pós-abate

O couro e as vísceras de bovinos que entram no matadouro são fontes potenciais de contaminação da carcaça com bactérias patogênicas. Em condições normais, a contaminação via vísceras é evitada pela remoção dos componentes viscerais intactos. Se a evisceração é feita corretamente, os conteúdos viscerais não contribuem muito para a contaminação geral da carcaça.

É muito mais difícil restringir a contaminação de outra fonte importante, o couro. Durante a vida do animal, o couro se contamina com um grande número de microorganismos derivados de uma variedade de fontes, como fezes, solo, água e vegetação, incluindo patógenos importantes, como *E. coli* O157:H7 e *Salmonella* sp.

A transferência da contaminação da superfície do couro para a carcaça é inevitável pela natureza do processo de remoção do couro. A contaminação pode ocorrer por meio do contato direto entre o couro e a carcaça, ou por transferência indireta, por meio das mãos, roupas, ferramentas dos trabalhadores e equipamentos do abatedouro, que foram contaminados anteriormente pelo couro (McEvoy et al., 2000). Esses autores mostraram que a melhoria nas práticas de higiene pode reduzir a contaminação da carcaça.

Ao se evitar o abate de animais excessivamente sujos, e com o uso de luvas limpas, facas e equipamentos estéreis pelos encarregados da remoção do couro, há redução na contagem geral de bactérias da carcaça.

O último elo da cadeia é a manipulação e o armazenamento do alimento pelo consumidor, que deve ser educado quanto aos procedimentos básicos de higiene ou pode pôr grande parte do trabalho prévio a perder (Ratcliff, 2003).

Considerações finais

Estratégias para reduzir ou minimizar a emergência e disseminação de resistência antimicrobiana na agricultura e medicina têm se tornado uma prioridade em escala internacional.

O aumento da incidência de resistência bacteriana aos antimicrobianos por bactérias patogênicas tem sérias implicações no tratamento e prevenção de doenças infecciosas em animais e no homem. Embora muitas informações estejam disponíveis, alguns aspectos ecológicos no desenvolvimento e disseminação da resistência bacteriana ainda são desconhecidos.

A disseminação da resistência bacteriana aos antimicrobianos é o resultado de numerosas e complexas interações entre antimicrobianos, microorganismos e o seu ambiente no entorno. Um claro entendimento dessas interações é fundamental para avaliação dos fatores de risco.

Programas de monitoramento bem desenhados são fundamentais para o sucesso da obtenção de dados com alta qualidade e subsídios para o desenvolvimento de políticas públicas adequadas e eficientes.

A redução do uso de antibióticos, o uso de moléculas de ação de espectro estreito e alternativas de controle de doenças bacterianas contribuem para a diminuição do risco do aparecimento de resistência aos antimicrobianos.

A transferência de bactéria resistente não está restrita a uma área em particular. O mercado de produtos cárneos e a disseminação de bactérias com genes de resistência transferíveis alcançam um caráter mundial. Assim, a prevenção ou disseminação de resistência a antibióticos a partir de bactérias da flora intestinal animal por meio da carne, leite e seus subprodutos requer uma regulamentação mundial.

Este texto não pretende esgotar o assunto, apenas contribuir para a discussão sobre o controle dos antimicrobianos em bovinos, levantando informações disponíveis na literatura internacional e as tendências das regulamentações para esse tópico, para analisar o uso de antibióticos na nutrição animal com enfoque em bovinos de corte. Dessa forma, contribuir na construção de ações que permitam minimizar a transferência da resistência microbiana, a contaminação microbiana dos alimentos de origem animal e os riscos para a saúde humana.

Referências bibliográficas

AARESTRUP, F. M.; BAGER, F.; JEMSÉN, N. E.; MADSEN, M.; MEYLING, A.; WEGENER, H. C. Surveillance of antimicrobial resistance in bacteria isolated from food animals to antimicrobial growth promoters and related therapeutic agents in Denmark. **Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica**, Kobenhavn, v. 106, n. 6, p. 606-622, 1998.

ANADÓN, A.; MARTINEZ-LARRANAGA, M. R. Residues of antimicrobial drugs and feed additives in animal products: regulatory aspects. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 59, n. 2/3, p. 183-198, 1999.

BEACH, J. C.; MURANO, E. A.; ACUFF, G. F. Serotyping and antibiotic resistance profiling of salmonella in feedlot and nonfeedlot beef cattle. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 65, n. 11, p. 1694-1699, 2002.

BERGEN, W. G.; BATES, D. B. Ionophores: their effect on production efficiency and mode of action. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 58, n. 6, p. 1465-1483, 1984.

BOGAARD, A. E. van den; STOBBERING, E. E. Epidemiology of resistance to antibiotics links between animals and humans. **International Journal of Antimicrobial Agents**, Amsterdam, v. 14, n. 4, p. 327-335, 2000.

BRITO, M. A. P. Uso de antibacterianos na pecuária leiteira e risco de resistência para o homem. In: SIMPÓSIO DE RESISTÊNCIA BACTERIANA AOS ANTIMICROBIANOS, 2., 2003, Rio de Janeiro. [Anais...]. [Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz, 2003]. CD-ROM. SimrebanII.pps. Mesa redonda.

BROWN, B. W. A review of nutritional influences on reproduction in boars, bulls and rams. **Reproduction, Nutrition, Development**, Paris, v. 34, n. 2, p. 89-114, 1994.

CHANDRA, R. K. Nutrition and the immune system: an introduction. **American Journal of Clinical Nutrition**, Philadelphia, v. 66, n. 2, p. 460-463S, 1997.

DONKERSGOED, J. van. **Preslaughter strategies for reducing bacterial contamination of beef products**. Lethbridge Research Center - National Beef Science Seminar. Canadians Cattlemen's Association, Lacombe, Alberta. Summary of Proceedings 2000. Disponível em: <http://res2.agr.ca/lethbridge/nbss/nbss00/vandonker_e.htm>. Acesso em: 3 out. 2003.

DRAISCI, R.; QUADRI, F.; ACHENE, L.; VOLPE, G.; PALLESCHI, L.; PALLESCHI, G. A new electrochemical enzyme-linked immunosorbent assay for the screening of macrolide antibiotic residues in bovine meat. **Analyst**, London, v. 126, n. 11, p.1942-1946, 2001.

ERSKINE, R. J.; WALKER, R. D.; BOLIN, C. A.; BARTLETT, P. C.; WHITE, D. G. Trends in antibacterial susceptibility of mastitis pathogens during a seven-year period. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85, n. 5, p. 1111-1118, 2002.

EUCLIDES FILHO, K., CORRÊA, E. S.; EUCLIDES, V. P. B. **Boas práticas na produção de bovinos de corte**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2002. (Embrapa Gado de Corte. Documentos, 129). Disponível em: <<http://www.cnpqg.embrapa.br/publicacoes/doc/doc129/>>. Acesso em: 27 fev. 2003.

FAO, IEEA. **Validation of analytical methods for food control**, Roma, 1998. p. 1-58. (Food Nutrition paper, 68).

FAO, WHO. **Codex alimentarius Commission: procedural manual**. Food standards program. 8th ed. Genebra, 1993. p. 5-57.

FEDORKA-CRAY, P. J.; ENGLIN, M. D.; GRAY, J.; HUDSON, C.; HEADRICK, M. L. Programs for monitoring antimicrobial resistance. **Animal Biotechnology**, New York, v. 13, n. 1, p. 43-55, 2002.

GEWEHR, C. E.; LAWISCH, A. A. Antibióticos na nutrição animal. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v. 16, n. 2, p. 43-46, 2003.

GRANDIN, T. **Livestock behaviour, design of facilities and humane slaughter**. Temple Grandin Home Page. Disponível em: <<http://www.grandin.com/index.html>>. Acesso em: 27 fev. 2003.

HARDY, B. The issue of antibiotic use in the livestock industry: what have we learned? **Animal Biotechnology**, New York, v. 13, n. 1, p. 129-147, 2002.

HOFACRE, C. L.; WHITE, D. G.; MAURER, J. J.; MORALES, D. C.; LOBSINGER, C.; HUDSON, C. Characterization of antibiotic-resistant bacteria in rendered animal products. **Avian Diseases**, Kennett Square, v. 45, n. 4, p. 953-961, 2001.

JACOBSON, B.; CONSUMER, S. **Antibiotics in beef**. Colorado State University Cooperative Extension, Douglas County. Disponível em: <<http://www.ext.colostate.edu/PUBS/COLUMNCC/cc990115.html>>. Acesso em: 2 set. 2003.

KUNKLE, B.; SAND, B. **Beef cattle: feeding**. Disponível em: <<http://hammock.ifas.ufl.edu/txt/fairs//aa/951.htm>>. Acesso em: 10 abr. 1998.

LATSHAW, J. D. Nutrition-mechanisms of immunosuppression. **Veteterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, v. 30, n. 1, p. 111-120, 1991.

LEVY, S. B. **The antibiotic paradox: how miracle drugs are destroying the miracle**. New York: Plenum, 1992. 25 p.

LINTON, A. H. Antibiotic resistance bacteria in animal husbandry. **British Medical Bulletin**, Edinburg, v. 40, n. 1, p. 91-95, 1984.

MACGREGOR, J. Set a bug to catch a bug. **New Scientists**, London, v. 178, n. 2389, p. 36-40, 2003.

MCDERMOTT, P. F.; ZHAO, S.; WAGNER, D. D.; SIMJEE, S.; WALKER, R. D.; WHITE, D. G. The food safety perspective of antibiotic resistance. **Animal Biotechnology**, New York, v. 13, n. 1, p. 71-84, 2002.

MCEVOY, J. M.; DOHERTY, A. M.; FINNERTY, M.; SHERIDAN, J. J.; McGUIRE, L.; BLAIR, I. S.; McDOWELL, D. A.; HARRINGTON, D. The relationship between hide cleanliness and bacterial numbers on beef carcasses at commercial abattoir. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 30, n. 7, p. 390-395, 2000.

MCEWEN, S. A.; FEDORKA-CRAY, J. Antimicrobial use and resistance in animals. **Clinical Infectious Diseases**, Chicago, v. 34, n. 3, p. 93-106, 2002.

MILLER, E. R. Mineral X disease interactions. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 60, n. 6, p. 1500-1507, 1985.

NAGARAJA, T. G.; TAYLOR, M. B. Susceptibility and resistance of ruminal bacteria to antimicrobial feed additives. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 53, n. 7, p. 1620-1625, 1987.

NEWBOLD, C. J.; WALLACE, R. J.; WALKER, N. D. The effect of tetronasin and monensin on fermentation, microbial numbers and the development of ionophore-resistant bacteria in the rumen. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v. 75, n. 2, p. 129-134, 1993.

NICODEMO, M. L. F. **Uso de aditivos na dieta de bovinos de corte**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2001. 54 p. (Embrapa Gado de Corte. Documentos, 106).

NOCKELS, C. F. Antioxidants improve immunity following stress. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 62, n. 1, p. 59-98, 1996.

NOVILLA, M. N. The veterinary importance of the toxic syndrome induced by ionophores. **Veterinary and Human Toxicology**, Manhattan, v. 34, n. 1, p. 66-70, 1992.

ORGANIZATION INTERNATIONALE DES EPIZOTIES. Ad hoc Group of experts on antimicrobial resistance. Antimicrobial resistance. **Scientific and Technical Review of Office International des Epizooties**, v. 20, n. 3, p. 797-868, 2001.

PALERMO-NETO, J.; TITZE, R. A. Antimicrobianos como aditivos em animais de produção. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 3. ed. São Paulo: Guanabara Koogan, 2002. p. 558-573.

QUIRK, M. Antibiotic-resistant bacteria in food animal on the rise. **The Lancet Infectious Diseases**, London, v. 1, n. 5, p. 293, 2001.

RANDERSON, J. Virus beats food bug. **New Scientists**, London, v. 178, n. 2392, p. 1-22, 2003.

RATCLIFF, J. From farm to fork: issues in food safety. In: WORLD CONFERENCE OF ANIMAL PRODUCTION, 9.; REUNIÃO DA ASSOCIAÇÃO LATINOAMERICANA DE PRODUÇÃO ANIMAL, 17., 2003, Porto Alegre. [Proceedings...] Porto Alegre: World Association of Animal Production: Asociacion Latinoamericana de Produccion Animal: Sociedade Brasileira de Zootecnia: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2003. CD-ROM. Seção de Trabalhos.

REID, G.; FRIENDSHIP, R. Alternatives to antibiotic use: probiotics for the gut. **Animal Biotechnology**, New York, v. 13, n. 1, p. 97-112, 2002.

RESISTANCE DNA in antibiotics. **New Scientist Archive**, Londres, v. 182, n. 2442, p. 4, 2004. Disponível em: <<http://www.newscientist.com>> . Acesso em: 25 jun. 2004.

ROSA, F. R. T. A influência das exportações. **Beefpoint. Conjuntura**. Disponível em: <<http://www.beefpoint.com.br/bn/conjuntura>> . Acesso em: 2 dez. 2003.

SALYERS, A. An overview of the genetic basis of antibiotic resistance in bacteria and its implications for agriculture. **Animal Biotechnology**, New York, v. 13, n. 1, p. 1-5, 2002.

SCHWARTZ, S.; CHASLUS-DANCLA, E. Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance. **Veterinary Research**, Munchen, v. 32, n. 3-4, p. 201-225, 2001.

SEMJÉN, G. The effects of Intervention on antimicrobial resistance. **Acta Veterinaria Scandinavica**, Vanloese, v. 6, n. 93, p.105-110, 2000.

SEWELL, H. B. **Feed additives for beef cattle**. Disponível em: <<http://muextension.missouri.edu/xplor/agguides/ansci/g02075.htm>> . Acesso em: 30 mar. 1998.

SKOLD, O. Evolution and mechanism for spread of antimicrobial resistance. **Acta Veterinaria Scandinavica**, Vanloese, v. 6, n. 93, p. 23-32, 2000.

STOBBERING, E. E.; BOGAARD, A. E. van den. Spread of antibiotic resistance from food animals to man. **Acta Veterinaria Scandinavica**, Vanloese, v. 6, n. 93S, p. 47-52, 2000.

STOCK, R.; MADER, T. **Feed additives for beef cattle**. Disponível em: <<http://www.ianr.unl.edu/pubs/beef/g761.htm>>. Acesso em: 16 abr. 1998.

STRYER, L. **Biochemistry**. 4. ed. New York: W. H. Freeman, 1995. 1064 p.

SULAKVELIDZE, A.; ALAVIDZE, Z.; MORRIS JÚNIOR, J. G. Minireview - bacteriophage therapy. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Bethesda, v. 45, n. 3, p. 649-659, 2001.

TANAKA, Y.; KIMURA, K.; KOMANAGATA, Y.; TSUZUKI, H.; TOMONADA, H.; OMURA, Radioimmunoassay for erythromycin derivatives. **Journal of Antibiotics**, Tokyo, v. 41, n. 2, p. 258-260, 1988.

TEUBER, M.; PERRETEN, V. Role of milk and meat products as vehicles for antibiotic-resistant bacteria. **Acta Veterinaria Scandinavica**, Vanloese, v. 6, n. 93, p. 75-87, 2000.

TRIEU-CUOT, P.; ARTHUR, M.; COUVALIN, P. Origin, evolution and dissemination of antibiotic resistance genes. **Microbiological Sciences**, Oxford, v. 4, n. 9, p. 263-266, 1987.

WERCKENTHIN, C.; CARDOSO, M.; MARTEL, J. L.; SCHWARZ, S. Antimicrobial resistance in staphylococci from animals with particular reference to bovine *Staphylococcus aureus*, porcine *Staphylococcus hyicus*, and canine *Staphylococcus intermedius*. **Veterinary Research**, Munchen, v. 32, n. 3-4, p. 341-362, 2001.

WITTE, W. Selective pressure by antibiotic use in livestock. **International Journal of Antimicrobial Agents**, Amsterdam, v. 16, n. 15, p. 19-24, 2000.

WITTE, W.; TSCHAPE, H.; KLARE, I.; WERNER, G. Antibiotics in animal feed. **Acta Veterinaria Scandinavica**, Vanloese, v. 6, n. 93, p. 37-45, 2000.

STOBBERING, E. E.; BOGAARD, A. E. van den. Spread of antibiotic resistance from food animals to man. **Acta Veterinaria Scandinavica**, Vanloese, v. 6, n. 93S, p. 47-52, 2000.

STOCK, R.; MADER, T. **Feed additives for beef cattle**. Disponível em: <<http://www.ianr.unl.edu/pubs/beef/g761.htm>>. Acesso em: 16 abr. 1998.

STRYER, L. **Biochemistry**. 4. ed. New York: W. H. Freeman, 1995. 1064 p.

SULAKVELIDZE, A.; ALAVIDZE, Z.; MORRIS JÚNIOR, J. G. Minireview - bacteriophage therapy. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Bethesda, v. 45, n. 3, p. 649-659, 2001.

TANAKA, Y.; KIMURA, K.; KOMANAGATA, Y.; TSUZUKI, H.; TOMONADA, H.; OMURA, Radioimmunoassay for erythromycin derivatives. **Journal of Antibiotics**, Tokyo, v. 41, n. 2, p. 258-260, 1988.

TEUBER, M.; PERRETEN, V. Role of milk and meat products as vehicles for antibiotic-resistant bacteria. **Acta Veterinaria Scandinavica**, Vanloese, v. 6, n. 93, p. 75-87, 2000.

TRIEU-CUOT, P.; ARTHUR, M.; COUVALIN, P. Origin, evolution and dissemination of antibiotic resistance genes. **Microbiological Sciences**, Oxford, v. 4, n. 9, p. 263-266, 1987.

WERCKENTHIN, C.; CARDOSO, M.; MARTEL, J. L.; SCHWARZ, S. Antimicrobial resistance in staphylococci from animals with particular reference to bovine *Staphylococcus aureus*, porcine *Staphylococcus hyicus*, and canine *Staphylococcus intermedius*. **Veterinary Research**, Munchen, v. 32, n. 3-4, p. 341-362, 2001.

WITTE, W. Selective pressure by antibiotic use in livestock. **International Journal of Antimicrobial Agents**, Amsterdam, v. 16, n. 15, p. 19-24, 2000.

WITTE, W.; TSCHAPE, H.; KLARE, I.; WERNER, G. Antibiotics in animal feed. **Acta Veterinaria Scandinavica**, Vanloese, v. 6, n. 93, p. 37-45, 2000.

Embrapa

Gado de Corte

Onde há Pesquisa há Vida



A pesquisa é o nosso campo



Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento

Governo
Federal